

NOTA METODOLÓGICA

El problema de las medidas repetidas. Análisis longitudinal en epidemiología

M. Sáez

Grup de Recerca en Estadística, Economia Aplicada i Salut (GRECS). Departament d'Economia. Universitat de Girona.

Correspondencia: Dr. Marc Sáez. Grup de Recerca en Estadística, Economia Aplicada i Salut (GRECS). Departament d'Economia. Universitat de Girona. Campus de Montilivi, 17071 Girona.
Correo electrónico: marc.saez@udg.es

*Recibido: 23 de marzo de 2001.**Aceptado: 11 de junio de 2001.***(The problem of repeated measurements. Longitudinal analysis in epidemiology)****Resumen**

La característica peculiar de los estudios longitudinales es la medición repetida a lo largo del tiempo en cada individuo o sujeto de estudio. En este sentido, son diseños mixtos, caracterizados por considerar simultáneamente dos o más dimensiones de análisis, en los que el tiempo constituye una de ellas.

El análisis longitudinal presenta importantes ventajas respecto a otros diseños. La más importante es que son más eficientes, al permitir distinguir variaciones inter e intraindividuales.

Cuando se pretenden realizar inferencias promedio o poblacionales, los estudios longitudinales pueden aproximarse usando un enfoque marginal, y para realizar inferencias individualizadas se deben utilizar los enfoques condicionales.

Los modelos estadísticos a utilizar dependen del tipo de variable-respuesta analizada. Si se trata de una variable distribuida normalmente, se utilizan modelos lineales mixtos. Cuando la variable-respuesta es cantitativa discreta se utilizan regresiones (mixtas) de Poisson, y regresiones (mixtas) logísticas binomiales o multinomiales, cuando la variable-respuesta es dicotómica o politómica, respectivamente.

Palabras clave: Modelos mixtos. Análisis longitudinal. Enfoque marginal. Enfoque condicional. Modelo de efectos aleatorios.

Summary

In longitudinal analyses subjects are repeatedly measured along time. They are mixed designs, characterised for their simultaneous consideration of two or more dimensions of analysis, in which time is one of the dimensions.

Longitudinal analyses have important advantages with respect other designs. The most important is that they are more efficient, since they allow to distinguish between-individual and within-individual variation.

Longitudinal analyses can be approached marginal and conditionally. Whereas the former allows to draw poblational, or average, inferences, the latter permits to draw individual inferences.

The statistical models to use depend on the type of response variable. If the dependent variable is normally distributed one will use linear mixed models. When the response is a count one will use mixed Poisson regressions. Mixed binomial or multinomial logistic regressions should be used when the response would be categorical.

Key words: Mixed models. Longitudinal analyses. Marginal and conditional approaches. Random effects models.

Introducción. Diseños mixtos: multinivel y longitudinales

En el análisis estadístico aplicado en epidemiología están proliferando recientemente los ejemplos de diseños mixtos^{1,2}, caracterizados por considerar simultáneamente dos o más dimensiones de análisis. Comprenden, por un lado, los diseños multinivel^{3,4} o de niveles múltiples, también denominados jerárquicos⁵ y, por otro, los estudios longitudinales o de medidas repetidas⁶. Los estudios multinivel tienen una estructura jerárquica, con agrupaciones de datos en grupos o clústers. En la bibliografía científica estos niveles jerárquicos se denominan nivel uno y nivel dos, estadio

uno y estadio dos, nivel individual y nivel poblacional o nivel individual y nivel clúster⁷. La característica peculiar de los estudios longitudinales es la medición repetida a lo largo del tiempo en cada individuo o sujeto de estudio. Por tanto, se puede considerar la estructura como mixta, con las observaciones (repetidas) agrupadas dentro de cada individuo y el tiempo se puede considerar como una variable explicativa más dentro de cada grupo.

Con el fin de ilustrar el análisis de los diseños longitudinales, en la figura 1 se representan los registros correspondientes a dos individuos cualesquiera de una submuestra del estudio Vlagtwedde-Vlaardingen^{8,9} (Vlaardingen es una comunidad urbana situada en el

Figura 1. Diseño del estudio longitudinal. NA: ausencia de datos.

Individuo \ Tiempo	Primer período	Segundo período	Tercer período
00001	FEV: 2.986 l Edad: 30 años Sexo: Varón $X_i = \dots$	FEV: 2.522 l Edad: NA Sexo: Varón $X_i = \dots$	FEV: 1.931 l Edad: 70 años Sexo: Varón $X_i = \dots$
00002	FEV: 2.453 l Edad: 27 años Sexo: Mujer $X_i = \dots$		FEV: 1.322 l Edad: 67 años Sexo: Mujer $X_i = \dots$
...

sudoeste de Holanda, y Vlagtwedde es una comunidad rural del nordeste). Se trata de un estudio de medidas repetidas sobre la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cuyo principal objetivo fue identificar los factores de riesgo causantes de la pérdida de capacidad pulmonar en los adultos. En particular cada tres años, empezando en 1967 (Vlagtwedde) y en 1969 (Vlaardingen), se midió en los sujetos el volumen respiratorio forzado en un segundo (FEV₁), junto con la altura y la edad de los sujetos, registrándose también la presencia de síntomas respiratorios.

Mientras cada una de las columnas de la figura 1 constituiría un corte transversal, cada fila se podría considerar como una serie temporal para cada individuo. Como características diferenciadoras, en un diseño longitudinal los períodos de observación no coinciden necesariamente en todos los individuos; las variables explicativas pueden ser fijas (como el sexo) o variables en el tiempo (como la edad) y puede haber una ausencia de datos (*missing data*), codificados como NA en este ejemplo.

Como ventaja respecto a los cortes transversales, los análisis longitudinales permiten estudiar el orden temporal de los sucesos de interés. En particular, permiten determinar si los factores de riesgo preceden a los posibles efectos de esos factores sobre las variaciones de la variable de interés, característica denominada temporalidad. Aunque temporalidad no equivale a causalidad, es evidente que es una condición *sine qua non*. En comparación con los estudios de series temporales, que suelen utilizar observaciones agregadas, los estudios longitudinales se basan en observaciones individuales, por lo que el riesgo de incurrir en sesgos debidos a la agrupación de sujetos es mucho menor. Por otra parte, a diferencia del longitudinal, el análisis de series temporales no permite ni discontinuidades en las observaciones de las

variables de interés ni intervalos de observación de distinto tamaño.

El análisis longitudinal, al tener en cuenta explícitamente todas las dimensiones, es más eficiente (en el sentido de menor variancia en las estimaciones) no sólo que el análisis de series temporales o que los estudios transversales, sino también de la simple combinación de series temporales y corte transversal, diseño denominado *pooled*. De hecho, el análisis longitudinal es el único que permite distinguir entre la variación entre individuos (interindividual) y la variación dentro del individuo (intraindividual).

En la figura 2 a se establece la relación entre la edad y el FEV₁ para pacientes asintomáticos (línea superior) y sintomáticos (línea inferior) en el estudio Vlagtwedde-Vlaardingen, aunque sin distinguir entre las dos dimensiones del análisis, individuo y tiempo. Un diseño *pooled* diría que como promedio o, técnicamente, a nivel poblacional, a mayor edad del individuo menor será su capacidad pulmonar y que la presencia de síntomas respiratorios disminuye la capacidad pulmonar independientemente de la edad. La figura 2 b, sin embargo, refleja mucha variabilidad intraindividual. La evolución de la capacidad pulmonar en el tiempo para cada uno de los individuos depende, entre otras cosas, de la edad en que se empezó a medir el FEV₁, de la ocurrencia de enfermedades respiratorias, etc. Pues bien, el análisis longitudinal permite estimar simultáneamente la variabilidad interindividual (representada en la fig. 2 a) y la variabilidad intraindividual (fig. 2 b).

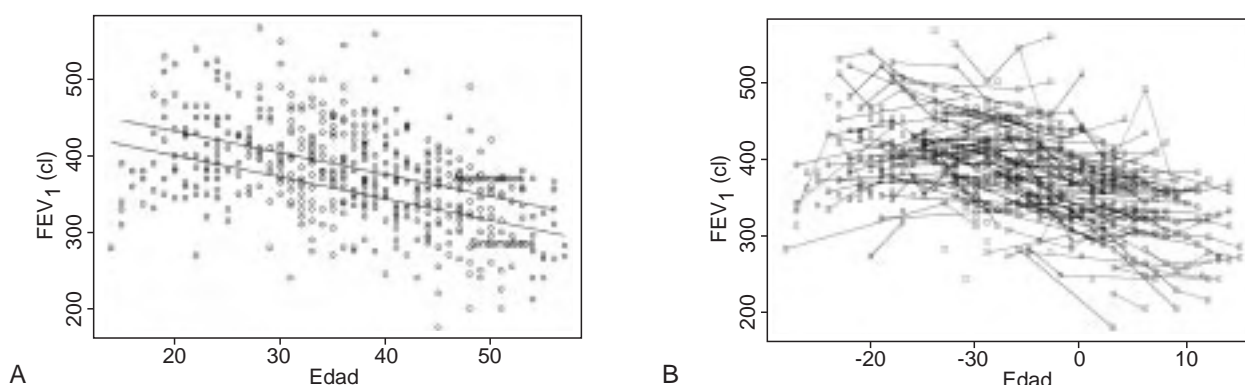
Aproximaciones al análisis de datos longitudinales. Modelos marginales y modelos condicionales

Según el objetivo propuesto, los estudios longitudinales pueden aproximarse marginal o condicionalmente. Se utiliza el enfoque marginal cuando se pretenden realizar inferencias poblacionales, como la representada en la figura 2 a, es decir, si lo que se quiere es explicar la relación entre la variable dependiente y las variables explicativas con independencia de la variabilidad intraindividual.

El enfoque condicional pretende realizar inferencias individuales. Para ello, modeliza simultáneamente la media de la variable dependiente (la variabilidad interindividual) y la estructura de covariancias o correlaciones (la variabilidad intraindividual). En este enfoque los parámetros que definen la correlación tienen el mismo, y a veces incluso más, interés que los correspondientes a la media.

Volviendo al estudio de Vlagtwedde-Vlaardingen, nos interesa estimar la relación entre la capacidad pulmo-

Figura 2. Relación entre edad y FEV₁ en el estudio Vlagtwedde-Vlaardingen.
A: Diseño pooled. B: Diseño longitudinal.



nar y los síntomas respiratorios, controlando por la edad y la altura de los individuos.

$$FEV_{1ij} = \beta_0 + \beta_1 \text{ síntomas}_{ij} + \beta_2 \text{ edad}_{ij} + \beta_3 \text{ altura}_{ij} + u_{ij}$$

El subíndice i denota individuo ($i = 1, 2, \dots, 198$ sujetos); el subíndice j los períodos de medición ($j = 1, 2, \dots$, hasta un máximo de 7 medidas); los β son parámetros desconocidos a estimar (β_0 es la ordenada en el origen y β_1 es el parámetro de interés); y u_{ij} es un término de perturbación que recoge, entre otros factores, aquellas variables explicativas de la variabilidad de la capacidad pulmonar distintas de las consideradas en la ecuación.

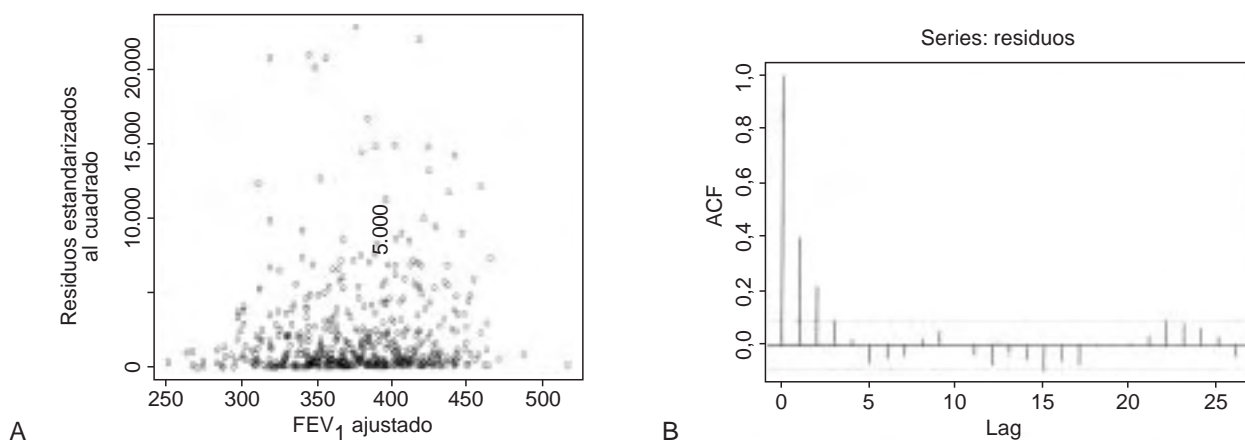
La respuesta analizada, el FEV₁, es una variable continua, por lo que seguirá una distribución de probabilidad normal, siendo apropiado en este caso la utilización de modelos de regresión lineal múltiple. Consideramos, en primer lugar, un diseño *pooled*, en el que

no se contemplan las dos dimensiones del análisis, es decir sin tener en cuenta la presencia de observaciones repetidas para los individuos.

Los resultados de la estimación por mínimos cuadrados ordinarios (MCO) se detallan en la primera columna de la tabla 1. Estos resultados, sin embargo, no pueden ser interpretados, puesto que el no tener en cuenta el diseño longitudinal ha implicado cometer importantes errores de especificación, los cuales se han manifestado en una variancia residual no constante entre individuos, es decir, heterocedasticidad (v. la dispersión que presentan los residuos al cuadrado en la fig. 3 a) y en autocorrelación residual (v. la función de autocorrelación simple en la fig. 3 b).

El enfoque marginal implica que tanto la ordenada en el origen (β_0) (FEV₁ basal) como los coeficientes asociados a las variables explicativas (el asociado a síntomas respiratorios [β_1], en particular) son comunes para todos los individuos. No existe heterogeneidad indivi-

Figura 3. Diagnósticos del modelo de regresión lineal múltiple. Diseño pooled.
A: Heterocedasticidad. B: Autocorrelación.



dual o, dicho de otra forma, todos los efectos (de las variables explicativas, incluida la ordenada en el origen) son fijos.

$$FEV_{1ij} = \beta_0 + \beta_1 \text{síntomas}_{ij} + \beta_2 \text{edad}_{ij} + \beta_3 \text{altura}_{ij} + u_{ij}$$

El término de perturbación tiene una variancia no constante y está autocorrelacionado.

Los parámetros de la covariancia, es decir, la autocorrelación y/o la heterocedasticidad, no son de interés sino que son tratados como un estorbo (*nuisance*), que se controlan pero no se estiman en el enfoque marginal. En nuestro caso (segunda columna de la tabla 1), un modelo marginal consistiría en estimar por mínimos cuadrados generalizados (para controlar la autocorrelación y la heterocedasticidad) el modelo de regresión lineal múltiple de la segunda ecuación expuesta utilizado en el diseño *pooled*.

Al igual que el resto de los modelos estimados para el diseño longitudinal, el modelo marginal pasa todas las pruebas diagnósticas, por lo que puede ser interpretado sin problema. Así, utilizaremos el enfoque marginal cuando nos interese únicamente la inferencia poblacional. En este sentido (segunda columna de la tabla 1), se puede apreciar que la presencia de síntomas respiratorios reduce la capacidad pulmonar 5,655 cl como

promedio, independientemente de la edad y la altura del individuo.

Los modelos de efectos aleatorios constituyen el enfoque condicional más conocido. Suponen que los efectos de algunas (o todas) de las variables explicativas (coeficientes de la regresión) son específicos a los individuos (no comunes a todos ellos). Existe heterogeneidad individual, que es consecuencia de factores no observables (o variables omitidas) comunes a algunos individuos. En la bibliografía especializada se suele distinguir entre modelos de efectos aleatorios, cuando los coeficientes de variables explicativas dicotómicas son específicos a los individuos, y modelos de coeficientes aleatorios, cuando son los coeficientes de variables continuas. Hemos supuesto que tanto la capacidad pulmonar basal como el efecto del resto de variables explicativas de la capacidad pulmonar varían entre los distintos individuos (v. la ecuación que exponemos a continuación). En este sentido, se puede apreciar que los parámetros contienen el subíndice *i* que, como ya hemos mencionado, denotan individuo.

$$FEV1_{ij} = \beta_{0i} + \beta_{1i} \text{síntomas}_{ij} + \beta_{2i} \text{edad}_{ij} + \beta_{3i} \text{altura}_{ij} + u_{ij}$$

Los resultados de la estimación del modelo se presentan en la cuarta columna de la tabla 1. El mo-

Tabla 1. Estimación de la relación entre capacidad pulmonar y síntomas respiratorios, controlando por edad y altura de los individuos (estudio Vlagtwedde-Vlaardingen)

	Diseño <i>pooled</i>		Diseño longitudinal	
	MCO	Marginal	Autorregresivo ^a	Modelo de efectos aleatorios
Efectos fijos	Media (error estándar)			
Síntomas respiratorios	-29,489 (4,486)	-5,655 (2,474)	-4,856 (1,740)	-4,754 (1,755)
Edad ^b	-2,668 (0,214)	-2,055 (0,214)	-2,154 (0,129)	-2,085 (0,119)
Altura ^b	4,055 (0,300)	3,917 (0,424)	3,920 (0,251)	3,727 (0,242)
FEV ₁ basal ^c	364,438 (2,923)	359,245 (3,691)	364,043 (2,971)	356,390 (2,764)
FEV ₁ previo			0,799 (0,035)	
Efectos aleatorios ^d	Media (IC del 95%)			
Intraindividual				18,709 (16,895-20,720)
Interindividual				
Basal				45,480 (38,428-53,825)
Síntomas respiratorios				3,742 (0,738-18,982)
Edad				1,857 (1,397-2,469)
Altura				1,676 (0,819-3,430)

^aAutorregresivo de orden 1.

^bVariables centradas para facilitar la interpretación. Edad centrada = edad - 42 años; altura centrada: altura - 177 cm.

^cTérmino independiente. FEV₁ en centilitros (cl).

^dDesviaciones estándares. MCO: mínimos cuadrados ordinarios.

delo de efectos aleatorios, que también pasa todas las pruebas diagnósticas, permite obtener inferencias individuales. Nótese que, como promedio, la presencia de síntomas respiratorios reduce la capacidad pulmonar 4,754 cl, que la capacidad pulmonar se reduce con la edad y que aumenta con la altura. La particularidad de este modelo, sin embargo, se refleja en la fila de efectos aleatorios de la tabla 1 y en la figura 4. Observamos que la variabilidad individual es muy importante. Nótese, incluso, que el efecto de los síntomas sobre la capacidad pulmonar no es el mismo para todos los individuos (figura 4 a), contradiciendo el diseño *pooled* (primera ecuación expuesta y fig. 2).

Los modelos de transición de Markov¹⁰, autorregresivos⁶ o de estructura de covariancia, son otro tipo de aproximación condicional. Modelizan en una ecuación única la esperanza condicional de la respuesta y la dependencia (correlación) entre las observaciones dentro de cada grupo. En el ejemplo (cuarta ecuación), hemos propuesto un modelo autorregresivo de orden uno. En él la esperanza condicional de la variable respuesta depende, además de las variables explicativas, del comportamiento previo de ella misma (es decir, in-

troducimos como una variable explicativa más la variable respuesta retardada un período).

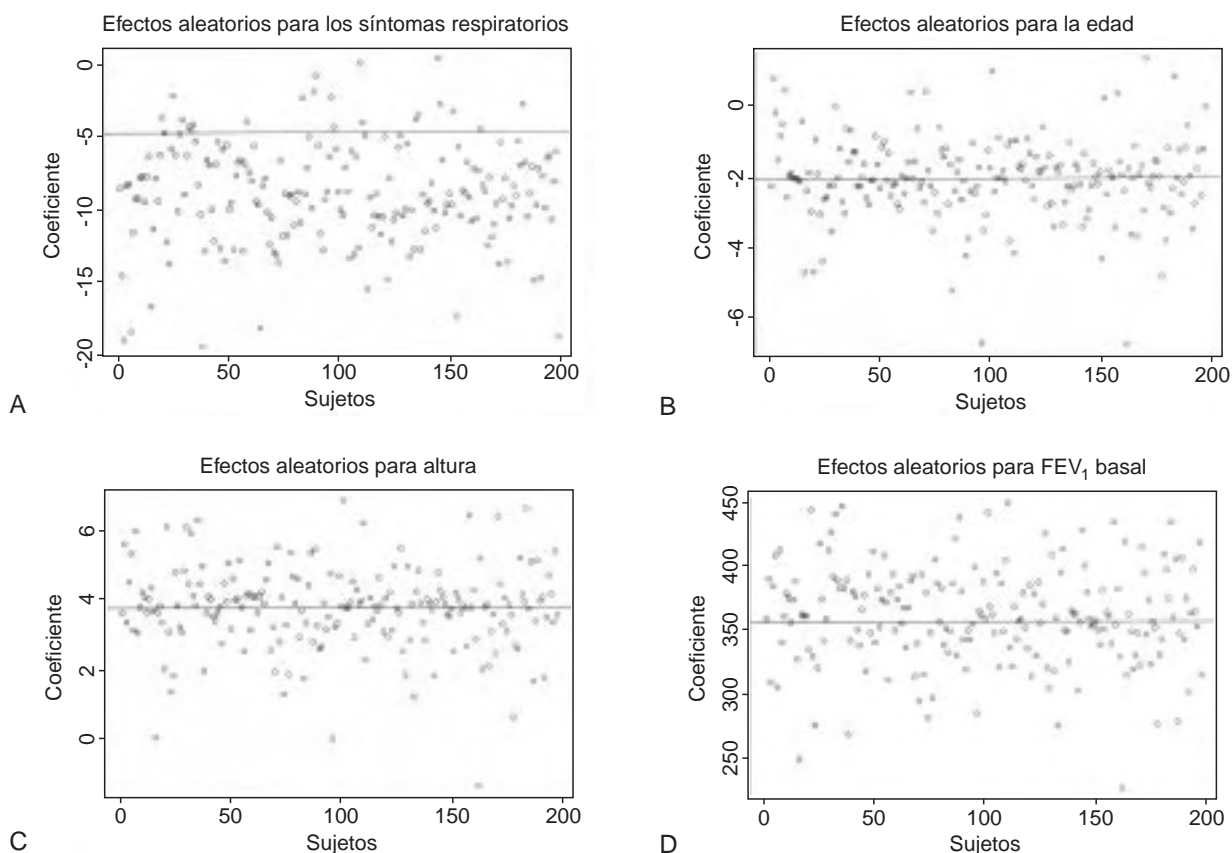
$$FEV_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \text{síntomas}_{ij} + \beta_2 \text{edad}_{ij} + \beta_3 \text{altura}_{ij} + \gamma FEV_{ij-1} + u_{ij}$$

El término de perturbación tiene una variancia no constante y está autocorrelacionado.

Los resultados de la estimación del modelo autorregresivo se presentan en la tercera columna de la tabla 1. Obsérvese que este modelo ha permitido estimar la dependencia entre las observaciones de un mismo individuo, igual a 0,799 como promedio.

Los modelos autorregresivos, a diferencia de otros modelos condicionales, suponen que la dependencia entre observaciones repetidas, el coeficiente asociado a la respuesta retardada (γ) es un efecto fijo, es decir, común a todos los individuos. Por otra parte, la estructura de dependencia implicada por los modelos autorregresivos de orden uno implica que la mayor influencia sobre la variable dependiente la produce el valor inmediatamente precedente, decayendo la influencia de forma exponencial conforme nos alejamos en el tiempo.

Figura 4. Efectos aleatorios. A: Síntomas respiratorios. B: Edad. C: Altura. D: FEV₁ basal.



Modelos estadísticos y algunos programas informáticos para su análisis

Aunque hemos distinguido entre tipos de diseño y enfoques diferentes, apenas hemos mencionado qué modelos estadísticos se deben utilizar. Éstos dependen del tipo de variable-respuesta analizada. Si se trata de una variable cuantitativa continua, distribuida normalmente, se utilizan modelos de regresión lineal, denominados «modelos mixtos lineales»¹¹, utilizándose modelos mixtos no lineales en otro caso. Cuando la variable-respuesta es cuantitativa discreta se utilizan regresiones (mixtas) de Poisson, y regresiones (mixtas) logísticas binomiales o multinomiales, cuando la variable respuesta es dicotómica (distribución binomial) o politómica (distribución de probabilidad multinomial), respectivamente.

Diversos programas y paquetes estadísticos informáticos permiten analizar los modelos analizados. BMDP, MLn y HLM¹² permiten estimar modelos multinivel y, muy raramente, modelos longitudinales sencillos. Otros programas más generales, como el SAS¹³ y el S-Plus¹⁴ permiten analizar cualquier tipo de modelo mixto, tanto multinivel como longitudinal. Un enfoque bayesiano para analizar modelos mixtos generales puede encontrarse en el programa BUGS. Desafortunadamente, otros programas de uso más extendido, como el SPSS, sólo permiten el análisis de modelos marginales.

Agradecimientos

A Santiago Pérez-Hoyos, por instigar, repetidamente, este trabajo.

Bibliografía

1. Sánchez-Cantalejo E, Ocaña-Riola R. Los modelos multinivel o la importancia de la jerarquía. *Gac Sanit* 1999; 13: 391-398.
2. Fusté J, Rué M. Variabilidad en las actividades preventivas en los equipos de atención primaria de Cataluña. Aplicación del análisis de niveles múltiples. *Gac Sanit* 2001; 15: 118-127.
3. Goldstein H. *Multilevel statistical models*. Londres: Edward Arnold, 1995.
4. Hox JJ. *Applied multilevel analysis*. Amsterdam: TT-Publikaties, 1995.
5. Bryck AS, Raudenbush SW. *Hierarchical linear models: applications and data analysis methods*. Newbury Park: Sage Publications, 1992.
6. Diggle PJ, Liang KY, Zeger SL. *Analysis of longitudinal data*. Oxford: Oxford University Press, 1994.
7. Cnaan A, Laird NM, Slasor P. Using the general linear model to analyse unbalanced repeated measures and longitudinal data. *Stats Med* 1997; 16: 2349-2380.
8. Rijken B, Schouten JP, Weiss S. The relationship of nonspecific bronchial responsiveness to respiratory symptoms in a random population sample. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 62-68.
9. Muñoz A, Carey V, Schouten JP, Segal M, Rosner B. A parametric family of correlation structures for the analysis of longitudinal data. *Biometrics* 1992; 48: 733-742.
10. Brumback BA, Ryan LM, Schwartz J, Neas LM, Stark PC, Burge HA. Transitional regression models with application to environmental time series. *JASA* 2000; 95: 16-22.
11. Pinheiro JC, Bates DM. *Mixed effects models in S and S-Plus*. Nueva York: Springer and Verlag, 2000.
12. Bryk AS, Raudenbusch S, Congdon R. *Hierarchical linear and nonlinear modelling with the HLM/2L and HLM/3L programs*. Chicago: Scientific Software International, 1996.
13. Brown H, Prescott R. *Applied mixed models in medicine*. Chichester: John Wiley and Sons, 1999.
14. S-PLUS 2000 User's Guide. Seattle: Data Analysis Products Division, MathSoft, 1999.